

Mekaanisen ympäristön vaikutus hevosen kavion lamellikerroksen
histologiseen rakenteeseen

ELK Riikka Tanhua

Eläinlääketieteen lisensiaatin tutkielma
Kliininen hevos- ja pieneläinlääketiede
Eläinlääketieteellisten biotieteiden osasto
Eläinlääketieteellinen tiedekunta
Helsingin yliopisto
2019



Tiedekunta - Fakultet - Faculty Eläinlääketieteellinen tiedekulma	Osasto - Avdelning - Department Klininen hevos- ja pieneläinlääketiede	
Tekijä - Författare - Author Riikka Tanhua		
Työn nimi - Arbetets titel - Title Mekaanisen ympäristön vaikutus hevosen kavion lamellikerroksen histologiseen anatomiaan		
Oppiaine - Läroämne - Subject Hevosten sisätaudit		
Työn laji - Arbetets art - Level Lisensiaatintutkielma	Aika - Datum - Month and year 2019	Sivumäärä - Sidoantal - Number of pages 37
<p>Tiivistelmä - Referat - Abstract</p> <p>Ratsut ja ravurit liikkuvat elämänsä aikana eri tavalla. Ratsut liikkuvat usein pehmeämmillä pohjilla ja hitaammissa nopeuksissa kuin ravurit. Kavion histologinen normaalianatomia tunteminen toimii perustana lähdetessä tutkimaan normaalista poikkeavia tilanteita, kuten kaviokuumeen aiheuttamia histologisia muutoksia. Kavion histologista rakennetta eri käyttötarkoituksessa käytettävillä hevosilla on tutkittu vähän, joten tutkielman avulla oli tarkoitus alustavasti selvittää, onko ratsujen ja ravureiden lamellikerrosten välillä rakenteellisia eroja.</p> <p>Työn tavoitteena oli selvittää, onko ratsujen ja ravureiden kavion lamellikerroksessa histologisesti havaittavia rakenteellisia eroja. Hypoteesina oletettiin, että ratsujen ja ravureiden lamellien histologisessa rakenteessa on eroja, johtuen erilaisesta käyttötarkoituksesta erilaisilla pohjilla.</p> <p>Tutkimusmateriaali kerättiin Helsingin Yliopistollisessa eläinsairaalassa lopetettavaksi tulleista hevosista, sekä teurastamossa lopetetuista hevosista. Otanta koostui kolmesta ratsutaustaisesta ja viidestä ravitaustaisesta hevosesta. Hevosten tuli olla ontumattomia, eikä niillä saanut olla merkkejä tulehduksellisista ja hormonaalisista sairauksista. Hevosten terveydentila varmistettiin verinäytteillä. Kuoleman jälkeen hevosilta irrotettiin oikea etujalka, jonka kavion etuseinämästä leikattiin näytteeksi kaikkia kavion kerroksia sisältävä pala. Näytepala käsiteltiin ja leikattiin yhden solukerroksen paksuisiksi preparaateiksi. Preparaatit kiinnitettiin mikroskooppilasille, värjättiin PAS- ja HE-värjäyksillä, ja näytteistä otettiin kuvat patologian kuvausohjelmistolla. Näytteistä mitattiin primaaristen ja sekundaaristen epidermaalisten lamellien pituus ja leveys piirto-ohjelman avulla. Lisäksi arvioitiin sekundaaristen epidermaalisten lamellien rakennetta.</p> <p>Tutkimuksessa saatiin viitteitä siitä, että ratsujen sekundaariset epidermaaliset lamellit ovat pidempiä verrattuna ravihevosten sekundaarisiin epidermaalisiin lamelleihin. Lisäksi sekundaaristen epidermaalisten lamellien tyypeissä havaittiin eroja ryhmien välillä. Tulos oli osittain hypoteesin mukainen. Eroja havaittiin lähinnä sekundaarisissa epidermaalisissa lamelleissa. Käytännössä tästä voi olla hyötyä ajatellen jatkotutkimuksia, kun lähdetään luomaan pohjaa eri käyttötarkoituksessa olevien hevosten lamellien normaalin rakenteen arviointiin.</p> <p>Kyseessä oli kuvaileva pilottitutkimus, jonka tutkimusotanta oli pieni. Tutkimusotantaan sisältyneiden hevosten historiasta oli hyvin vähän tietoa, joten lamellien normaaliin rakenteeseen vaikuttavien tekijöiden vaikutusta ei voida täysin arvioida. Eroavaisuuksien merkitsevien erojen toteamiseksi tarvitaan jatkotutkimuksia.</p>		
Avainsanat - Nyckelord - Keywords Kavio, lamellikerros, PEL, SEL		
Säilytyspaikka HELDA - Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto	Förvaringställe	Where deposited
Työn johtaja (tiedekunnan professori tai dosentti) ja ohjaaja(t) - Instruktor och ledare - Director and Supervisor(s) Ninja Karikoski, ELT (ohjaaja) Marja Raekallio, ELT, dos (johtaja)		

Sisällys

1.	JOHDANTO	2
2.	KAVIO.....	3
2.1	Kavion anatomia	3
2.2	Kaviomekanismi	7
3.	KAVION NORMAALI MEKAANINEN RASITUS	8
3.1	Kavioon vaikuttavat voimat	8
3.2	Käytön vaikutus kavioon.....	9
3.3	Ratsu- ja ravihevosen käytön vaikutus kavioon.....	10
4.	KAVIOKUUME	12
4.1	Kaviokuumeen etiologia	12
4.2	Endokrinopaattinen kaviokuume	13
4.2.1	Aivolisäkkeen välilohkon toimintahäiriö (PPID)	13
4.2.2	Hevosen metabolinen syndrooma (EMS)	14
4.3	Tulehduksellinen kaviokuume	14
4.4	Mekaaninen kaviokuume	14
5.	MATERIAALI JA MENETELMÄT.....	15
5.1	Tutkimusmateriaali	15
5.2	Verinäytteet	16
5.3	Kudosnäytteet.....	17
6.	TULOKSET	20
7.	POHDINTA	24
8.	JOHTOPÄÄTÖKSET	27
	LÄHTEET	28

LYHENTEET

α -MSH: Alfa melanosyyttejä stimuloiva hormoni

ACTH: Adrenokortikotrooppinen hormoni

CLIP: Kortikotropiinin kaltainen intermediaarinen peptidi

EDTA: Etyleenidiamiinitetraetikkahappo

EMS: Hevosen metabolinen syndrooma, *equine metabolic syndrome*

PDL: Primaarinen dermaalinen lamelli

PEL: Primaarinen epidermaalinen lamelli

PPID: Aivolisäkkeen välilohkon toimintahäiriö, pituitary *pars intermedia* dysfunction

SDL: Sekundaarinen dermaalinen lamelli

SEL: Sekundaarinen epidermaalinen lamelli

TRH: Tyrotropiinia vapauttava hormoni

1. JOHDANTO

”Ei kaviota – Ei hevosta” (Granström ym. 2011). Kaviot kantavat päällään hevosen koko elopainon, minkä vuoksi kavioiden terveydestä huolehtiminen on erittäin tärkeää. Vaurioitunut kavio vaikuttaa koko hevosen toimintaan ja pienikin kipu kaviossa voi laukaista voimakkaan ontuman, joka puolestaan heikentää hevosen käyttömahdollisuuksia huomattavasti (Granström ym. 2011). Kavion normaali ulkoinen rakenne ja toiminta tunnetaan pääpiirteissään ja solutason rakennetta, eli histologiaa on tutkittu useassa tutkimuksessa (Pollitt 1996, De Laat ym 2011, Karikoski ym. 2014, Karikoski ym. 2015b). Tiedetään, että monet elimistön tulehdustilat ja erilaiset hormonaaliset häiriötilat voivat aiheuttaa muutoksia kavion lamellikerrokseen, joka on kavion seinämän sisin kerros. Lamellikerros on rakenne, joka yhdistää kavion kovan ulkokerroksen pehmeään martokavioon (Karikoski ym. 2014). Tutkimuksia terveen kavion lamellikerroksen histologiasta on tehty viimeisten vuosikymmenten aikana (Pollitt 1994, Pollitt 1998, Pollitt 2004, Pollitt ym. 2016), mutta eri käyttötarkoituksessa olevien terveiden hevosten lamellikerroksen vertailusta on kirjoittajan tiedon mukaan vain yksi tutkimus. Kawasako ym. (2008) tutkimuksessa perehdyttiin lamellikerroksen histologiseen vaihteluun eri käyttötarkoituksessa olevilla hevosilla, joilla ei ollut kaviokuumeeseen viittaavia oireita. Tutkimuksessa hevosia ei ole kuitenkaan eritelty lopetukseen johtaneiden syiden perusteella, joten tutkimuksessa ei suljettu pois mahdollisesti systeemisesti sairaita, kuten ähkystä tai erilaisista infektiosta kärsiviä hevosia. Erilaisten systeemisten sairauksien tiedetään altistavan kaviokuumeelle (Karikoski ym. 2015b), joten Kawasakon ym. (2008) tutkimustuloksiin on suhtauduttava varauksella.

Lamellikerroksen histopatologisia muutoksia kaviokuumeen aikana on tutkittu jonkin verran (Asplin ym. 2010, De Laat ym. 2011, Karikoski ym. 2015b). Jotta lamellikerroksen histopatologisia muutoksia voidaan arvioida, esimerkiksi kaviokuumeen yhteydessä, tulee lamellikerroksen normaalirakenne ja sen vaihtelu erilaisilla hevosilla ensin tuntee. Tiedetään, että kavioon kohdistuvat voimat vaihtelevat nopeuden, askellajin ja kavion ulkoisen rakenteen mukaan (Clayton 1990, Hernlund ym. 2010, Hobbs ym 2016). Lisäksi kavioon vaikuttavat voimat vaihtelevat liikunta-alustan mukaan (Crevier-Denoix ym. 2010). Ratsuilla kavioihin vaikuttavat myös ratsastaja ja ratsastajan ratsastustekniikka. Nämä seikat yhdessä ratsastajan painon jakautumisen kanssa voivat vaikuttaa jopa kavion ulkoiseen rakenteeseen (Summerley ym. 1998).

Koska kavion normaaliin ulkoiseen rakenteeseen vaikuttavat voimat vaihtelevat eri käyttötarkoituksissa ja erilaisilla alustoilla, voi myös lamellikerroksen rakenteeseen tulla muutoksia. Tämän tutkimuksen tavoitteena oli verrata eri käyttötarkoituksissa toimivien hevosten lamellikerroksen histologista rakennetta toisiinsa ja tuottaa tietoa lamellikerroksen normaalista histologisesta rakenteesta. Kun kavion normaali histologinen rakenne tunnetaan, voidaan luoda vertailupohja myös patologisten muutosten tarkasteluun.

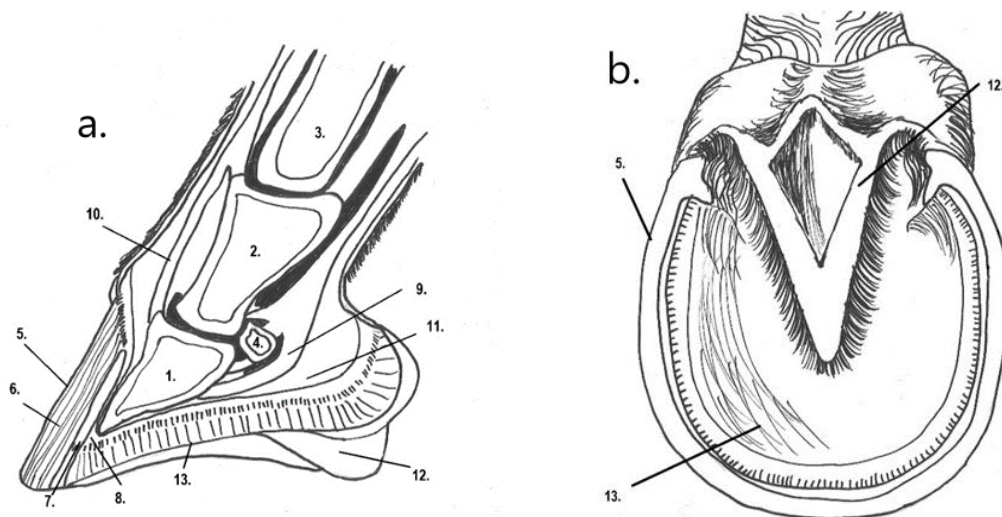
Tämän lissensiaattityön tarkoituksena oli selvittää, onko ratsuhevosten ja ravihevosten erilaisella käytöllä vaikutusta kavion lamellikerroksen histologiseen rakenteeseen. Tutkimuksen hypoteesina oli, että eri käyttötarkoituksissa olevien hevosten kavion lamellikerroksien histologiassa on eroja.

2. KAVIO

2.1 Kavion anatomia

Hevoseläinten katio on pitkälle erikoistunut rakenne, jollaista ei tavata muilla eläinlajeilla. Ulkoisesti kaviosta nähdään sarveiskapseli, joka ympäröi kavion pehmeitä sisäosia ja luurakenteita (kuva 1a), sekä pohjan rakenteet (kuva 1b). Kavion rakenne yhdessä hevosen kevyen jalkarakenteen kanssa mahdollistaa suuren eläimen nopean ja korkeaanergisen liikkeen vaikeissakin maastoissa (Pollitt 2016).

Kaviosta puhutaan yleiskielessä hevosen raajan distaalisimpana rakenteena (Pollitt 2016), mutta the International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature on vuoden 2012 julkaisussaan Nomina Anatomica Veterinaria määritellyt termin katio sisältämään kavion rakenteista sarveistuneen epidermoksen ja dermoksen eli kavion ihonalaiskudoksen, martokavion. Hevosella painoa kantava pinta on kavion uloin reuna, joka on voimakkaan sarveistunutta ja pitkälle erikoistunutta kudosta (Pollitt 2016).



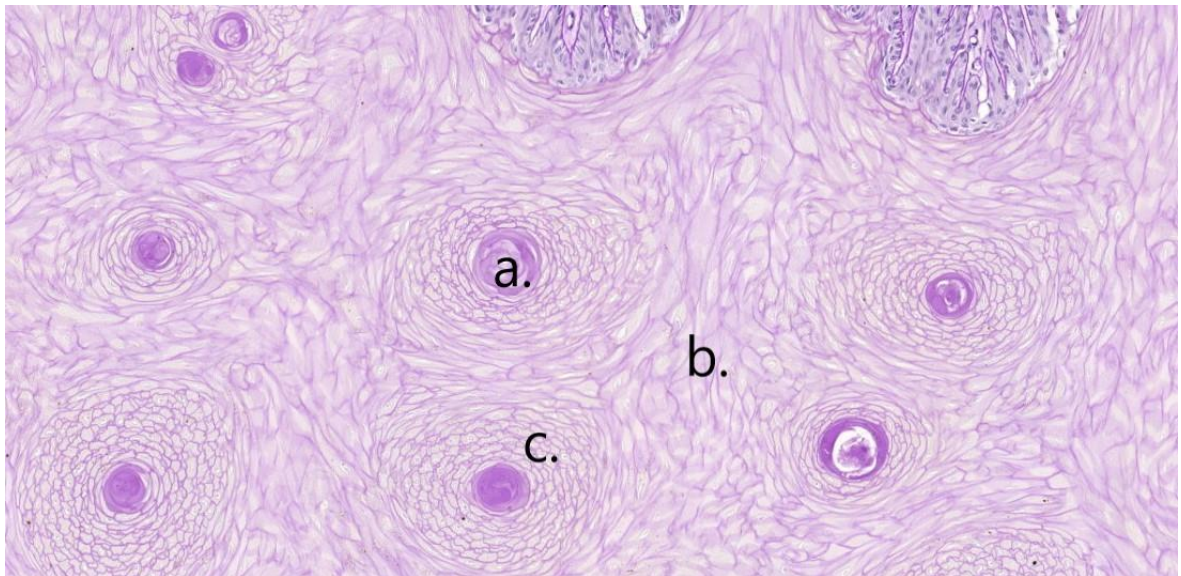
Kuva 1. a) hevosen jalan distaaliosa lateraalisuunnasta ja b) kavion pohja. 1. Kavioluu, 2. Ruunuluu, 3. Vuohisluu, 4. Sädeluu, 5. Kiille, 6. Kavion sarveiskerros, jonka distaaliosa on painoa kantava osa terveessä kaviossa, 7. Lamellikerros, 8. Martokavio, voimakkaan verisuonittunut rakenne, 9. Syvä koukistajajänne; 10. Pitkä ojentajajänne, 11. Sädepatja, 12. Säde, 13. Kavion pohja (Granström ym. 2011, Pollitt 2016). (Kuvat: Riikka Tanhua)

Kavion seinämä voidaan jakaa kolmeen eri kerrokseen: *Stratum externum*, *stratum medium* ja *stratum internum*. *Stratum externum* on kavion uloin kerros, joka ruununrajassa, kavion ja ihon rajalla, nähdään kellertävänä pehmeänä kudoksena. Muualla kaviossa *stratum externum* on kovaa kiillemäistä kudosta, joka jatkuu noin 2 mm kerroksena koko kavion ympäri (Pollitt 2016). *Stratum externum* ja *stratum medium* voidaan erottaa *stratum internumista* ja dermiksestä röntgendiagnostiikalla (Goulet ym. 2015).

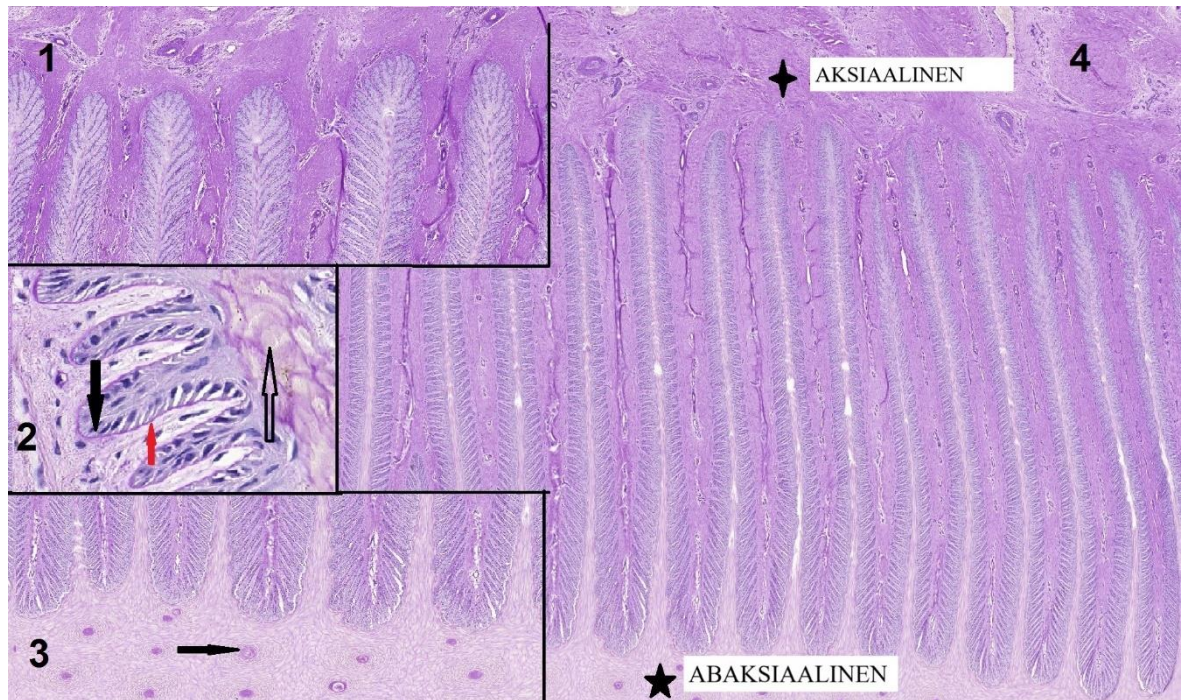
Stratum medium muodostaa kavion paksuimman, keskimmäisen kerroksen ja toimii kaviossa painoa kantavana ja voimaa siirtävänä rakenteena. (Pollitt 2016) *Stratum medium* koostuu kahdenlaisesta sarveisesta: tubulaarisesta ja intertubulaarisesta sarveisesta. Tubulaarinen sarveinen on rakenne, joka sisältää selkeitä sauvamaisia rakenteita. Intertubulaarinen sarveinen muodostaa suoran kulman tubulaariseen sarveiseen nähden ja sen järjestäytymätön rakenne täyttää tubulaarisen sarveisen välit (kuva 2) (Pollitt 2004, Pollitt 2016). Tubulaarisessa sarveisessa voidaan havaita histologisesti sauvarakenteiden ydin- ja kuorirakenteet, jotka muodostuvat alun perin *stratum basalesta* eli tyvikalvosta *stratum internumissa* (Pollitt 2004). Tubuluksien on havaittu rakentuvan kaviossa tiheämmin abaksiaalisesti kuin aksiaalisesti (Lancaster ym. 2013). Sekä *stratum externumin* ja *stratum*

mediumin kasvu tapahtuu proksimodistaalisesti kohti kavion pohjaa. Kerrokset kasvavat keskimäärin 6,4 mm kuukaudessa (Dellmann ym 1996).

Stratum internum (lamellatum) on kavion seinämän sisin kerros, jota kutsutaan myös lamellikerrokseksi (kuva 3). Lamellikerros koostuu sarveistuneista primaareista (PEL) ja sekundaarisista (SEL) epidermaalisista lamelleista, sekä martokaviosta muodostuneista sidekuostuneista primaareista (PDL) ja sekundaarisista (SDL) dermaalisista lamelleista (Dellmann ym. 1996). Dermaalinen lamellikerros sisältää runsaasti kollageenisäikeitä, hermoja sekä verisuonia, jotka ovat kollageenisäikeiden avulla osallisena kaviomekanismin synnyssä (Dellmann 1993, Pollitt 1994, Faramarzi ym. 2011, Pollitt ym. 2016). Epidermiksien ja dermiksien välillä lamellikerroksessa on kolmekerroksinen tyvikalvo. Epidermaalikerrosta lähinnä olevaa kerrosta kutsutaan *lamina lucidaksi*, keskimmäistä kerrosta *lamina densaksi* ja lähinnä martokaviota olevaa kerrosta *pars fibro reticulariksesi*. (Pollitt 1994) Normaaleissa, vaurioitumattomissa lamelleissa tyvikalvo on kiinnittynyt SEL:n basaalisoluihin tiukasti hemidesmosomien avulla (Pollitt 1996, Asplin ym. 2010, De Laat ym. 2011). Martokavion kollageenisäikeet kiinnittyvät hemidesmosomeihin luoden voimakkaan voimaa siirtävän rakenteen lamellien ja kavioluun välille (Pollitt ym. 2016).



Kuva 2. Kavion sarveisseinämän tubulusrakenteiden muodostama sarveiskudosverkosto, *stratum medium*. a. ontto tubulusrakente, b. intertubulaarinen sarveinen, c. tubulaarinen sarveinen. PAS-värjäys. (Kuva: Riikka Tanhua)



Kuva 3. 1. Primaarisen epidermaalisen lamellin (PEL) aksiaali- eli kärkiosa. 2. Sekundaarinen epidermaalinen lamelli (SEL). SEL:n tyvikalvo (punainen nuoli), jonka basaalisolut ovat ovaalin mallisia (musta nuoli). SEL:t kasvavat kohti kavion abaksiaalista pintaa, jolloin epiteelisolut sarveistuvat (ääriviivanuoli). 3. PEL:n abaksiaalinen osa. Nuolella osoitettu tubulus-rakenne. 4. Lamellikerros kokonaisuudessaan. (Kuvat: Riikka Tanhua)

PEL:n määrä kaviossa vaihtelee 550-600 välillä. Kussakin PEL:ssa on noin 150-200 basaalisolusta proliferaation kautta muodostunutta SEL:a. PEL:n ja SEL:n muoto vaihtelee normaalissa kaviossa (Pollitt 1998, Asplin ym. 2010). Lamellikerroksen muutoksia on tutkittu sikiöaikaisten varsojen kavioista vastasyntyneiden kavioiksi, sekä kahden kuukauden ikäisiin varsoihin asti. Nuorten jo syntyneiden varsojen kavioiden lamellikerroksissa havaittiin runsaasti haarautuneita PEL:a, sekä todettiin PEL:n määrän lisääntyneen voimakkaasti syntymästä ensimmäisiin elinkuukausiin mennessä. Nämä seikat yhdessä viittaavat siihen, että PEL:t lisääntyvät jakautumalla muutaman ensimmäisen elinkuukauden aikana, mikä johtaa kavion lamellikerroksen nopeaan kehittymiseen (Bidwell ym. 2006).

2.2 Kaviomekanismi

Kaviomekanismi on raajan distaaliosan luuston ja kavion välillä toimiva joustomekanismi, joka yhdistää kavioluun ja kavion seinämän toisiinsa. Sen tärkeimpiä tehtäviä on ehkäistä pehmytkudosvaurioiden ja mahdollisen kivun syntymistä normaalissa liikkeen aikana kavion rakenteisiin kohdistuvassa paineessa. Mekanismin ansiosta hevosen paino jakautuu tasaisesti koko sarveisseinämän alueelle kavioluun kärjen sijaan (Pollitt 2016).

Anatomisesti kaviomekanismi koostuu dermaalisen lamellikerroksen kollageenisäikeiden verkostosta, mikä kiinnittyy kavioluuhun, sekä SEL:n kärkien tyvikalvoon (van Eps ym. 2010, Pollitt 2016). Kollageenisäikeet kiinnittyvät SEL:n tyvikalvoon tiukasti hemidesmosomien avulla. Tiukka kiinnitys aiheuttaa SEL:n kärkiin venyttävää painetta kavion iskeytyessä maahan (Pollitt 2016, Pollitt ym. 2016). Kavioluussa kollageenisäikeet kiinnittyvät luukalvoon Sharpeyn kuiduilla, jotka ovat periostin eli luuta peittävän sidekudoskalvon tyypin I kollageenista muodostuneita SDL:n kollageenisäikeitä. Nämä säikeet yhdistyvät tyvikalvon *lamina densa*stä lähtöisin olevaan tyypin VII kollageeniin tyvikalvon dermaalipuolella. Kiinnitys vaikuttaa olevan samantapainen kuin luustolihasjännerakenteiden kiinnittyminen luukalvolle ja erittäin vahva (Pollitt ym. 2016).

Martokaviossa risteilevien kollageenisäikeiden pituus ja järjestyneisyys vaihtelevat kiinnityskohdan ja leikkauspinnan mukaan. Kavion kärjellä kollageenisäikeet ovat pidempiä kuin kannoilla. Kollageenisäikeet ovat järjestäytyneet lineaarisesti kavion ympäri. Kavion etupuolella kavion seinämään kohtisuoraan tehdyllä poikittaisella leikkauspinnalla voidaan kuitenkin havaita säierakenteen epäjärjestäytyneisyyttä (Pollitt ym. 2016). Säierakenteiden vaihtelevuus johtuu todennäköisesti kavion muodon mekaanisesta muutoksesta paineen alla, jolloin varsinkin kavion kantaosan kollageenisäikeet joutuvat venytykseen (Pollitt 2016, Pollitt ym. 2016).

3. KAVION NORMAALI MEKAANINEN RASITUS

3.1 Kavioon vaikuttavat voimat

Kavioon kohdistuva rasitus vaihtelee riippuen hevosen jalka-asennoista, sekä liikeradasta. Lisäksi kavioon kohdistuviin voimiin vaikuttavat hevosen koko, rakenne ja painon jakautuminen jaloille. Kavioon kohdistuva paine jakautuu normaalissa hevosen liikkumisen aikana aiheutuvassa rasituksessa kavion seinämässä kavion kolmannesten rajapinnalle kavion ulkoreunalla (DeJardin ym. 1999). Tämä paine kohdistuu SEL:hin, joiden on todettu kestävän laukkaa vastaavassa nopeudessa jopa 1,67 MPa (N/mm²) paineen ennen dermoepidermaaliliitosten irtautumista (Kochová ym. 2013). Tämä vastaa lähes 17-kertaista ilmanpainetta.

Kavion seinämien pinnallinen rasitus kasvaa jo 5 asteen kaviokulmauksen muutoksella, joten jo lievät jalkojen asentomuutokset ja kavion pidentyminen vaikuttavat kavion seinämiin venyttävää painetta lisäävästi (DeJardin ym. 1999). Kavioihin kohdistuva asentovaikutus havaitaan myös askellajien vaihtuessa tai kiihtyessä, jolloin hevonen on suurissa nopeuksissa taipuvaisempi astumaan kavion kantaosalle ja hitaammissa nopeuksissa kärkiosalle (Hobbs ym. 2016). Normaalin kaviokulmauksen omaava hevonen on taipuvaisempi astumaan maahan kanta edellä, kun taas pidemmän kavion kanssa askellus tapahtuu varvas edellä. Pitkällä kaviolla askelluksen on todettu olevan liitovaiheen ravissa lyhyempi kuin normaalilla kaviokulmauksella (Clayton 1990).

Kavion maahan kohdistuva iskuvoima riippuu liikuntapohjan kovuudesta. Pohjan kovuuden vaikutusta on tutkittu useassa tutkimuksessa, joissa on todettu, että mitä kovempi pohja, sitä suurempi voima kohdistuu sekä kavion sarveisseinämään että kavion pohjaan (Drevemo ym 1994, Wilson ym. 2014, Faramarzi ym. 2018). Kavion iskeytyessä maahan, siihen vaikuttavat sekä vertikaalinen että horisontaalinen voima. Lisäksi kavioon vaikuttavat yksilövaihtelusta liikeradassa ja kavion mallista johtuva kiertävä voima (Wilson ym. 2009, Wilson ym. 2014, Faramarzi ym. 2018).

Kengityksen ja kengättömyyden vaikutusta hevosen liikkumisnopeuteen on tutkittu jonkin verran (Amitrano ym. 2015, Panagiotopoulou ym. 2016). Amiatrino ym (2015) tutkimuksessa tutkittiin kengättömyyden, varvaspidennetyn metallikengän, sekä kavioon

laitettavien yleensä metallikengättömillä hevosilla käytettävien kaviota suojaavien puettavien kenkien eli tossujen vaikutusta käyntinopeuteen, kavion maakosketusaikaan, sekä kavioon kohdistuvaan vertikaaliseen voimaan. Kuuden hevosen tutkimuksessa havaittiin, että verrattuna kengättömiin hevosiin tossuja ja varvaspidennettyjä kenkiä käyttävien hevosten käyntinopeus hidastui merkittävästi ja kavion maakosketusaika pidentyi. Lisäksi aika, jolloin maksimihidastuvuus saavutettiin, havaittiin huomattavasti suurempana maakosketusaikana tossujen kanssa, kuin ilman kenkiä tai varvaspidennyskengän kanssa. Kengitettyinä ja tossujen kanssa kavion pohja oli pidemmältä matkalta kosketuksissa maahan kuin ilman kenkiä. Kavioon vaikuttavat voimat eivät kuitenkaan merkittävästi eronneet kengättömyyden tai erikoiskengityksen välillä (Amitrano ym. 2015).

Normaalilla teräskenkäkengityksellä on havaittu samantapaisia tuloksia, mutta tutkimuksessa on pohdittu kenkien aiheuttaman kitkan ja iskunvaimennuksen olevan yhtenä mahdollisena tekijänä maakosketusajan ja hidastuvuuden muutoksiin (Panagiotopoulou ym. 2016). Kengityksen on myös todettu heikentävän kaviomekanismin iskunvaimennusvaikutusta ravatessa kovalla alustalla (Dyhre-Poulsen ym. 1994).

3.2 Käytön vaikutus kavioon

Ravi- ja ratsuhevosten liikkuminen eroaa toisistaan. Ravihevosten liike on tyypiltään eteenpäin suuntautuvaa, eikä ravihevosilla laukata yleensä ollenkaan hyvän ja vauhdikkaan ravin säilyttämiseksi (Crevier-Denoix ym. 2010, Hobbs ym. 2016). Ratsuhevosilla liike taas suuntautuu voimakkaammin ylös ja alas vauhdikkaan eteenpäin vievän liikkeen sijasta (Clayton 1994).

Ravi on kaksitahtinen ja symmetrinen askellaji, jossa hevosilla on havaittu muutoksia askelluksessa ja kavioon kohdistuvassa tasapainossa nopeuden kasvaessa. Ravissa on havaittu myös yksilöllisiä eroja hevosten välillä (Hobbs ym. 2016). Terveillä hevosilla on havaittu normaalivaihteluna jonkin verran epäsynkronaatiota diagonaalisten etu- ja takajalkojen välillä, jolloin diagonaaliset jalat eivät kosketa maata täysin samanaikaisesti (Clayton 1994). Hevosten on todettu käyttävän tasanopeudella ravin aikana kolmea eri tekniikkaa tasapainon säilyttämisessä: diagonaalisen askelluksen hajauttaminen etu- tai takajalka ensin -askelluksella, kavion kontaktiasennon vaihtaminen, ja vertikaalisen voiman hajauttaminen (Hobbs ym. 2016). Näiden tasapainoon liittyvien mekanismien aiheuttama

kavioon kohdistuvan voiman muutokset voivat olla osatekijöinä kavion rakenteen yksilölliseen vaihteluun (Pollitt ym. 2016).

3.3 Ratsu- ja ravihevosen käytön vaikutus kavioon

Ratsuhevosen kavioon vaikuttavat voimat riippuvat lajista, jossa hevosta käytetään (Hernlund ym. 2010). Kouluratsastuksessa hevosen kavio iskeytyy maahan yleensä varvas edellä, jolloin kavioon kohdistuva paine kohdistuu enemmän kavion kärkiosalle (Summerley ym. 1998). Kouluratsuilla on havaittu ravissa enemmän takajalkajohtoista astuntaa diagonaalisissa jaloissa (Hobbs ym. 2016). Estehevosilla kavio taas iskeytyy maahan useimmiten kanta edellä johtuen suuremmista nopeuksista, jolloin vuohinen taipuu alaspäin. Tämä aiheuttaa voimakasta vetoa kavioluuhun (Hernlund ym. 2010).

Estehevosilla takajalat iskeytyvät maahan suuremmalla nopeudella kuin etujalat johtuen hevosen asennosta esteen päällä, jossa takajalat ovat hevosen takana. Näin takajalkojen kiihtyvyys on maahan osuessa suurempi jalkojen siirtyessä hevosen alle. Etujalkojen nopeuteen ja iskuvoimaan vaikuttaa, onko kyseessä johtava vai seuraava jalka. Johtava etujalka osuu maahan merkittävästi pienemmässä kulmassa ja suuremmalla nopeudella verrattuna seuraavaan etujalkaan (kuva 4) (Hernlund ym. 2010).

Ratsastajan painon jakautuminen ja tasapaino vaikuttavat hevosen tasapainoon ja näin ollen myös kavioon kohdistuviin voimiin. Eräissä neljän hevosen tutkimuksessa todettiin, että taitavan ratsastajan vaikutus kouluratsastuksessa oli kavioiden painetta keventävä. Tähän selityksenä epäiltiin hevosen kokoamisesta eli ryhdistymisestä johtuvaa painon jakautumisen muutosta, joka poistaa painetta kavion mediaalipuolelta siirtäen sitä enemmän varpaalle. Tutkimus tehtiin hyvin koulutetuilla hevosilla ja ratsastajilla, joten näitä tuloksia ei välttämättä voida yleistää kaikkiin tilanteisiin (Summerley ym. 1998).



Kuva 4a-4c Estettä hyppäävillä hevosilla kavioihin vaikuttavat voimat vaihtelevat estekorkeudesta ja tyypistä, sekä johtavasta jalasta riippuen. (Kuvat: Riikka Tanhua, Anni Vilmunen)

Ravihevoset liikkuvat lähes aina ravissa. Ravihevoset liikkuvat usein vaihtelevalla alustalla vaihtelevissa nopeuksissa, jolloin nopeassa ravissa hevosen kavio iskeytyy maahan suurella voimalla. Ravihevosten maakosketusajan ja energian menetyksen on todettu olevan sitä pienempi, mitä kovemmalla pohjalla hevonen ravaa (Chateau ym. 2009, Crevier-Denoix ym. 2010). Hiekalla ja asfaltilla ravatessa on havaittu, että pehmeämmällä alustalla ravatessa ravihevosten askellus lyhenee ja nopeus vähenee. Tämä vaikuttaa osaltaan kavioon kohdistuvaan paineeseen. Kuiva pehmeä hiekka taas vähentää kavion laskeutumisen yhteydessä siihen kohdistuvaa voimaa (Chateau ym. 2010).

4. KAVIOKUUME

Kaviokuume on hevosen kavioiden esiintyvä kivulias tila, joka voi olla joko yhdessä tai useammassa jalassa samanaikaisesti. Kaviokuume ei itsessään ole sairaus, vaan oire jollekin toiselle elimistön sairaudelle tai häiriölle. Yleisimmin kaviokuume oireilee etujaloissa, mutta voi esiintyä myös takajaloissa (Ross ym. 2011, Leise ym. 2012). Kaviokuume aiheuttaa takajaloissa samankaltaisen tulehdusreaktion kuin etujaloissa, mutta kipu ja muutokset ovat voimakkaampia etujaloissa, koska etujalkojen päällä on enemmän painoa (Leise ym. 2012).

Kaviokuumeen oireita ovat ontuminen, jäykkyys, painon poistaminen etujaloilta nojaamalla taaksepäin, liikkumishaluttomuus, hikoilu, kohonnut syke, sekä painon siirtely jalalta toiselle. Kaviokuumeinen hevonen pyrkii astumaan maahan kanta edellä kivun välttämiseksi. Kipu aiheutuu lamellien rakenteen heikentymisestä ja siitä johtuvasta sarveisseinämän erkanemisesta. Hevosen askel voi myös lyhentyä ja se voi osoittaa taipumusta asettaa takajalat epänormaalin paljon kraniaalisesti kehon alle, eli hevonen seisoo niin sanotussa sahapukki-asennossa. Takajalkojen asento ja tyypillinen painon vaihtelu jalalta toiselle voivat ilmetä myös lievemässä kivussa. Kaviopihtitutkimuksessa saatetaan saada kipureaktio ja kaviossa voidaan tuntea lämpöä, sekä varvaspulssin voimistumista (Ross ym. 2011).

4.1 Kaviokuumeen etiologia

Laminiitti-nimestä huolimatta kaviokuumeessa on vain harvoin tulehdusmuutoksia (Ross ym. 2011). Kaviokuumeessa lamellit venyvät, jolloin kavioluu pääsee kiertymään kohti kavion pohjaa. Kaviokuumeen kivuliaisuuden oletetaan johtuvan paineen kohdistumisesta rakenteensa menettäneeseen lamellikerrokseen ja kaviomekanismin rakenteelliseen pettämiseen (Pollitt 2016).

Tämänhetkisen tiedon mukaan kaviokuumeen syntymekanismeja on kolme: hormoniperäiset sairaudet, mekaanisen rasituksen aiheuttama painojakauman muutos, esimerkiksi murtuman yhteydessä, sekä vakavat tulehdukselliset tilat (Parsons ym. 2007, van Eps ym. 2010, Karikoski ym. 2011, Wylie ym. 2011, Belknap 2016). Kaviokuumeelle altistaviksi tekijöiksi on havaittu muun muassa hiilihydraattien yliannostus ja siitä johtuva

hyperinsulinemia, sekä sepsis, eli verenmyrkytys (Parsons ym. 2007, Asplin ym. 2010, De Laat ym. 2011, Karikoski ym. 2015b, Karikoski ym. 2015a, Laskoski ym. 2016, Morgan ym. 2016). Kaviokuumeen tarkka etiologia on kuitenkin vielä toistaiseksi tuntematon (Patterson-Kane ym. 2018). Histologisia muutoksia tavataan myös luontaisessa hyperinsulinemiassa, joka liittyy usein hevosen aivolisäkkeen *pars intermedia* häiriöön (PPID pituitary *pars intermedia* dysfunction) tai hevosten metaboliseen syndroomaan (EMS equine metabolic syndrome) (Karikoski ym. 2015b).

4.2 Endokrinopaattinen kaviokuume

Kaviokuumeelle altistavista hormonaalisista tekijöistä käytetään yhteisnimitystä endokrinopaattinen kaviokuume. Eräät insuliiniaineenvaihdunnan häiriöt, kuten hyperinsulinemia ja/tai kudosten insuliiniresistenssi aiheuttavat kaviokuumetta toistaiseksi tuntemattomalla mekanismilla. Sekä EMS:ssa ja PPID:sää on havaittu näitä elimistön häiriötiloja, jonka vuoksi kaviokuume voi olla molemmissa oireena (Karikoski ym. 2011). Kokeellisesti aiheutettu hyperinsulinemia aiheuttaa poneilla lamellien histologisia muutoksia jo 55 tunnin kuluttua insuliinin yliannostuksesta (Asplin ym. 2010, Karikoski ym. 2014).

4.2.1 Aivolisäkkeen välilohkon toimintahäiriö (PPID)

PPID on sairaus, jossa aivolisäkkeen *pars intermedia* tuottaa ylen määrin hormoneja, kuten adrenokortikotropiinia (ACTH), α -melanosyyttejä stimuloivaa hormonia (α -MSH), kortikotropiinin kaltaista intermediaarista peptidiä (CLIP) ja β -endorfiinia. Hormonituotannon häiriöt johtuvat aivolisäkkeen välilohkon *pars intermedia* liikakasvusta tai kasvainmuutoksesta. Liikakasvu ja mahdolliset kasvainmuutokset johtuvat hypotalamuksesta lähtöisin olevan dopamiinin erityksen heikkenemisestä tai loppumisesta. PPID:a havaitaan yleisimmin vanhoilla hevosilla ja poneilla, ja siihen liittyy pitkäkarvaisuus eli hirsutismi, lihaksiston köyhtymistä, sekä epänormaalia rasvan jakautumista (Karikoski ym. 2011, Karikoski ym. 2015b). PPID diagnosoidaan yleisimmin hevosen sairaudelle tyypillisen ulkonäön, sekä ACTH-tason tai TRH-stimulaatiotestin avulla (McFarlane 2011).

4.2.2 Hevosen metabolinen syndrooma (EMS)

EMS:a tavataan yleensä kaikenikäisillä ylipainoisilla hevosilla. Sairaudesta on tyypillistä, että hevosella on hyperinsulinemia ja/tai insuliiniresistenssi (Carter ym. 2009). EMS:lle on tyypillistä rasvakertymät niskan, silmän supraorbitaali-kuopan, lautasten ja lapojen alueella. Hevosen ulkonäkö on mukana myös EMS:an diagnostiikassa. Lisäksi diagnostiikkaan käytetään EMS:n osalta joko perustason insuliinimäärittystä, joka on testinä epäherkkä, mutta yleisesti käytössä, tai sokerirasitustestiä (Morgan ym. 2016).

4.3 Tulehduksellinen kaviokuume

Tulehduksellinen kaviokuume voi syntyä erilaisten tulehduksellisten tilojen, kuten kohtu-, suolisto- tai keuhkoinfektion seurauksena. Eräissä tutkimuksissa tulehduksellisissa tiloissa yhdistäväksi ja altistavaksi tekijäksi akuutin kaviokuumeen kehittymiselle on havaittu endotoksemia (Parsons ym. 2007). Kaviokuumetta ei kuitenkaan ole myöhemmin saatu indusoitua pelkällä endotoksiinialtistuksella (Tóth ym. 2009). Laskoski ym. (2016) tehdyssä tutkimuksessa havaittiin vakavan ja lopetukseen johtaneen mahasuolikanavan sairauden, ähkyn, jälkeen histologisia muutoksia kavion lamellikerroksessa, kuten tyvisolukerroksen tumien pyöristymistä, sekundaaristen epidermaalisten lamellien pidentymistä, primaaristen epidermaalisten lamellien muotovaihtelua, tyvikalvon muodon ja ulkonäön muutoksia, sekä toisinaan tyvikalvon puuttumista kokonaan. Histologisessa värjäyksessä käytettyjen oksidatiivista stressiä indikoivien värien avulla voimakasta solurakenteisiin vaikuttavaa oksidatiivista stressiä havaittiin ainoastaan ähkyn sairastaneilla hevosilla (Laskoski ym. 2016).

4.4 Mekaaninen kaviokuume (SLL)

Mekaanisella kaviokuumeella (supportive limb laminitis, SLL) tarkoitetaan tilaa, jossa hevosen paino jakautuu epätasaisesti yhden tai useamman jalan kivun vuoksi, jolloin yleensä vierekkäiseen terveeseen jalkaan tai muihin jalkoihin voi tulla kaviokuumeoireita. Esimerkkejä painonjakauman muutoksia aiheuttaville jalkavaurioille ovat erilaiset luustoon tai niveliin kohdistuvat vauriot, kuten murtuma tai akuutti niveltulehdus (van Eps ym. 2010). Mekaanisen kaviokuumeen esiintyvyyden on todettu olevan vähäinen, vain noin 0,02 %

kaviokuumeista (Wylie ym. 2015), mutta murtumien kipsihoidossa sen esiintyvyys voi nousta jopa 12 %: in. Mekaanisen kaviokuumeen kehittymiseen vaikuttaa näissä tapauksissa, kuinka kauan kipsi on jalassa. Lisäksi riskiä kasvattaa hevosen suurempi ruumiinpaino (Virgin ym. 2011).

Mekaaniseen kaviokuumeeseen sairastuneiden hevosten kuolleisuuden on todettu olevan usein suurta eikä tilan syntymekanismeja täysin tunneta. Sen on epäilty aiheutuvan joko kaviomekanismin suorasta vaurioitumisesta mekaanisen rasituksen lisääntyessä, tai verenkiertohäiriöstä (van Eps ym. 2010).

5. MATERIAALI JA MENETELMÄT

5.1 Tutkimusmateriaali

Tutkimukselle haettiin lausunto Viikin kampuksen tutkimustoiminnan eettiseltä lautakunnalta ennen sen aloittamista.

Tutkimuksessa käytettiin Helsingin yliopistollisessa eläinsairaalassa lopetettuja lämminverisiä ravihevosia ja puoliverisiä ratsuhevosia, sekä teurastamolla lopetettuja lämminverisiä ravihevosia, joilla ei havaittu merkkejä kaviokuumeesta, metabolisista tai tulehduksellisista sairauksista, kuten PPID:sta tai EMS:sta. Kaviokuumeeseen viittaavia merkkejä olivat painon siirto jalalta toiselle, ontuminen, jäykkyys, liikkumishaluttomuus, kavion rengasmuodostus, nojaaminen takajaloille, hikoilu sekä korostunut varvaspulssi. Metaboliseen syndroomaan viittaavia merkkejä olivat rasvakertymät niskassa, supraorbitaalikuopissa, lavoissa ja takapuolessa. PPID:hen viittaavia merkkejä olivat hirsutismi, väsymys, hikoilu, lihasten surkastuminen, rasvakertymät sekä roikkuva maha.

Tutkimuksesta suljettiin verinäytteiden perusteella pois hevoset, joiden insuliini- ja glukoosiarvot ylittivät viitearvot tai joilla havaittiin tulehdusarvojen kohoamista. Koska PPID:tä havaitaan enemmän yli 15-vuotiailla hevosilla, kaikilta tutkimukseen osallistuneilta yli 15-vuotiailta hevosilta mitattiin ACTH sairauden poissulkemiseksi. Jos arvot ylittivät vuodenajan viitearvon, hevonen hylättiin tutkimuksesta. Vakavat tulehdukselliset sairaudet

suljettiin pois tulehdusarvojen perusteella. Tulehdusarvot puuttuivat kahdelta tutkimukseen osallistuneelta ratsuhevoselta, joiden terveydentila oli aiempien tutkimusten perusteella tiedossa. Lisäksi hevoset arvioitiin niiden liikkumisen, kuntoluokan, paikallisten tai yleistyneiden rasvakertymien, sekä karvan laadun ja pituuden mukaan. Tutkimukseen valituista hevosista suljettiin pois ne, joilla oli PPID:n tai EMS:an liitettyjä muutoksia.

Tutkimukseen valittiin lämminverisistä ravihevosista ne, jotka olivat tehneet aktiiviuraa, tai joiden edellisestä kilpailusuorituksesta ei ollut kahta vuotta pidempää aikaa. Kilpailuhistoria tarkistettiin Suomen Hippos ry:n pitämästä HEPPA-tietokannasta. Ratsuhevosia ei eritelty tutkimuksessa käyttötarkoituksen mukaan.

5.2 Verinäytteet

Hevosilta kerättiin verinäytteet tainnutuksen jälkeen pistohaavasta tai eutanasian yhteydessä kanyylin kautta kaulalaskimosta. Verinäytteitä kerättiin insuliinimäärittystä varten seerumiputkiin (Vacuette®), glukoosimäärittystä varten Li-hepariiniputkiin (Vacuette®), sekä leukosyytti- ja fibrinogeenimäärittystä varten EDTA-putkiin (Vacuette®). Verinäyteputkien tilavuus vaihteli keräyskerran mukaan riippuen valmistajalta saatavilla olevista tilavuuksista. Verinäytteet pidettiin viileässä, kunnes ne toimitettiin noin 3 tunnin sisällä jatkokäsittelyyn Helsingin Yliopistolliseen eläinsairaalaan.

Hematologiset ja biokemialliset määritykset tehtiin Helsingin Yliopistollisen eläinsairaalan keskuslaboratoriossa. Insuliinimääritys tehtiin Liphookin eläinsairaalan laboratoriossa. Glukoosi mitattiin pikamittarilla heti näytteenoton jälkeen Ascensia CONTOUR® Blood Glucose Meter – mittarilla (Bayer HealthCare, Saksa).

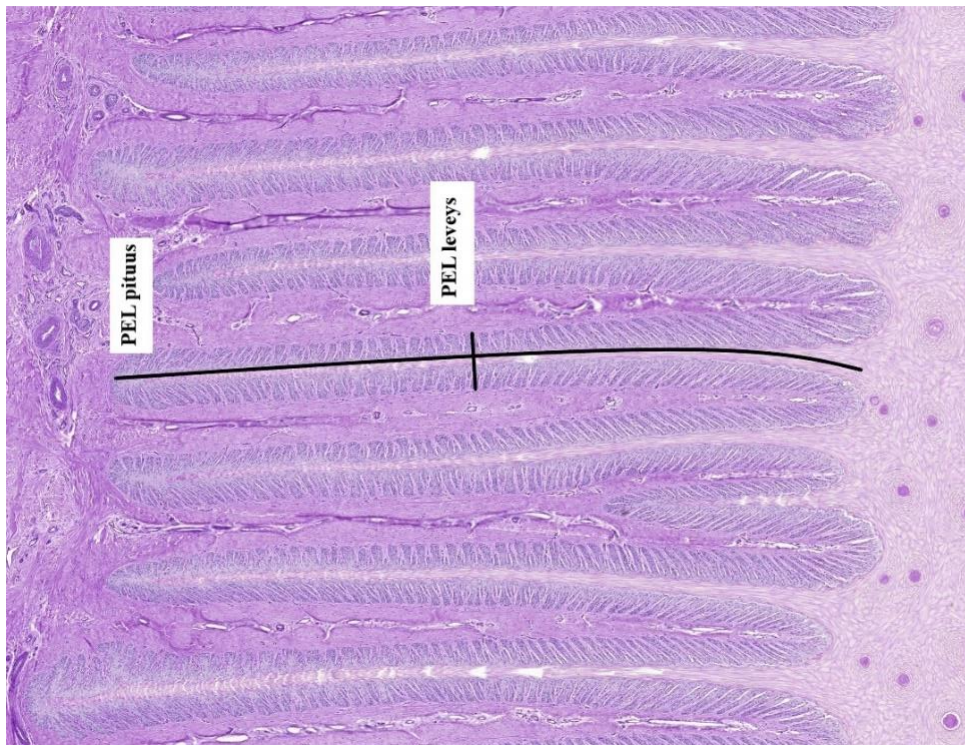
Insuliinimäärittystä varten seerumiputkeen otettu näyte sentrifugoitiin ja putkista kerättiin seerumi, joka jäädytettiin – 80 °C:seen. Tämän jälkeen näytteet lähetettiin Liphookin hevossairaalan laboratorioon (UK), jossa insuliinipitoisuus mitattiin immunokemiallisella kemiluminesenssimenetelmällä (Immulite©, Liphook Equine Hospital, UK).

5.3 Kudosnäytteet

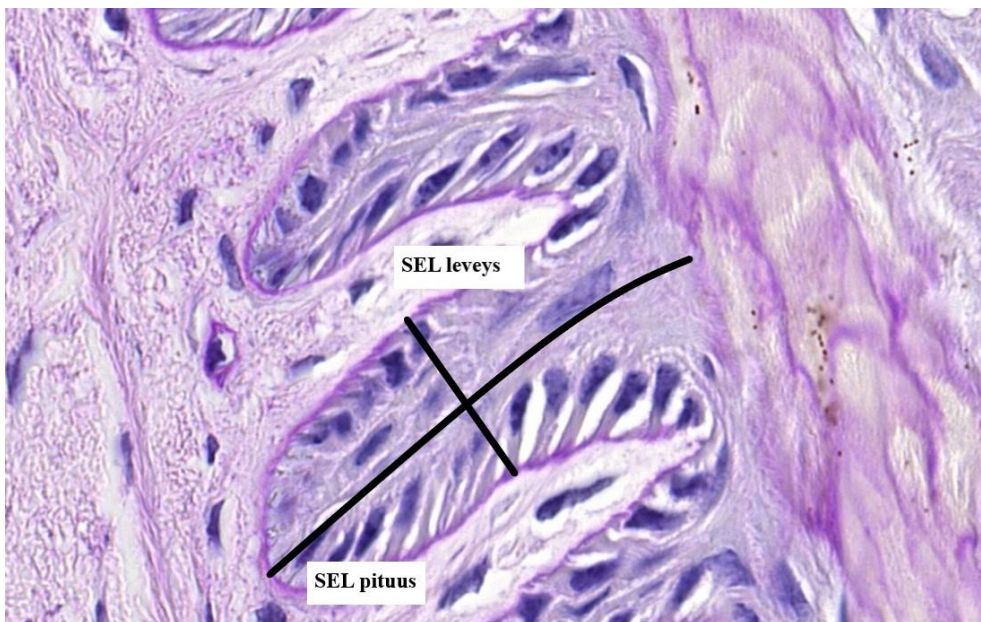
Lopetetuista hevosista irrotettiin heti kuoleman jälkeen joko oikea etujalka tai molemmat etujalat karpuksesta tai vuohisesta alaspäin. Jalat pakattiin kaksinkertaiseen muovipussiin ja toimitettiin Helsingin yliopiston Eläinlääketieteellisen tiedekunnan patologian osastolle jatkokäsittelyä varten. Kavioista leikattiin näytteet vannesahalla kuten aiemmin kuvattu (Karikoski ym. 2015). Kavio halkaistiin ensin kahtia sagittaalisesti, minkä jälkeen dorsaalipinnalta keskeltä leikattiin noin 1 cm x 1 cm kokoinen näytepala, joka sisälsi kaikki kavion kerrokset martokavioon asti. Näytepala laitettiin kiinnittymään 4 % paraformaldehydiin noin 24–48 tunniksi, minkä jälkeen se valettiin parafiiniin. Tämän jälkeen palasta tehtiin ohut leike, joka fiksoitiin objektilasille. Lopuksi leikkeet värjättiin hematoksykliinieosiinilla (HE) ja periodisella hapolla (PAS).

Objektilasilla olevista kudosnäytteistä otettiin digitaaliset mikroskooppivalokuvat 3DHistech Panoramic 250 FLASH II digitaalisella objektilasinlukijalla (Genome Biology Unit, Biomedicum, Helsinki). PEL:t ja SEL:t mitattiin ja arvioitiin mikroskooppileikkeistä otetuista 40x suurennoksella MRSX-muodossa olevista kuvista CaseViewer -piirto-ohjelman avulla (3DHistech, Unkari). Lamelleista mitattiin pituus, leveys ja välimatkat, sekä arvioitiin lamellien kärkiosa sekä tyviosa aiemmassa tutkimuksessa kehitetyn standardin mukaan (Kawasako ym. 2008, Karikoski ym. 2014).

Mitattavat lamellit valittiin numeroimalla PEL:t ja arpomalla mitattavat lamellit arvontaohjelmalla (www.randomizer.org). Mittaukseen arvottiin 10 PEL:a hevosta kohden ja jokaisesta PEL:sta mitattiin ja arvioitiin 10 SEL:a kustakin kohdasta (tyvi, keskikohta ja kärki). Yhteensä SEL:ja mitattiin ja arvioitiin 30 jokaista arvottua PEL:a kohden. Arvonnan jälkeen PEL:n ja SEL:n pituus ja leveys mitattiin kuvassa 5 ja 6 kuvatulla tavalla, ja mitat kirjattiin taulukko-ohjelmaan (Microsoft Office Excel 2016). SEL:ien tyyppi arvioitiin taulukossa 1 ja kuvassa 7 kuvailtujen standardien mukaisesti. Tuloskuvaajat tehtiin Microsoft Office Excel 2016 -laskentaohjelmalla.



Kuva 5. Primaaristen epidermaalisten lamellien (PEL) mittaukset suoritettiin vapaalla mittauksella hiiren ja piirto-ohjelman avulla valomikroskooppikuvasta ottamalla mitat kärjestä tyveen, sekä mittaamalla leveys PEL:n keskiosasta. PAS-värjäys. (Kuva: Riikka Tanhua)

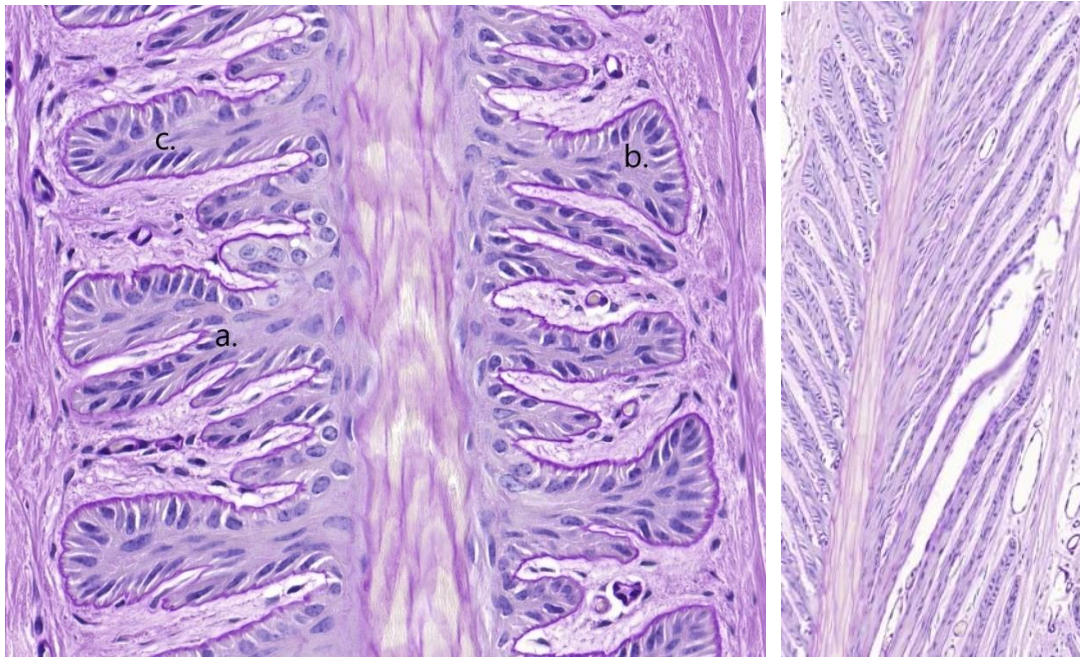


Kuva 6. Sekundaaristen epidermaalisten lamellien (SEL) mittaus suoritettiin PEL:n tyvestä, keskiosasta ja kärjestä. SEL:n pituus ja leveys mitattiin vapaalla mittauksella hiiren ja piirto-ohjelman avulla. PAS-värjäys. (Kuva: Riikka Tanhua)

Taulukko 1.

Sekundaaristen epidermaalisten lamellien tyypin arviointimatriisi.

Histologinen luokittelu	Tyypin kuvaus	Lamellien ulkonäkö	tyypillinen
SEL			
Tyyppi A	Standardi	1 tyvisolukerros jatkuu muutaman solukerroksen paksuisena	
Tyyppi B	Venynyt	Leveys pienentynyt, lamelli venynyt	
Tyyppi C	Nuijamainen	Kärki hypertrofinen, varsi standardin mukainen	
Tyyppi D	Suprabasaalikerroksen hyperplasia	Tyvisolukerros päällä oleva solukerros paksuuntunut kauttaaltaan	
Tyyppi E	Haarautunut	SEL haarautuu > 2 SEL:ksi	



Kuva 7. SEL:n eri malleja valomikroskooppikuvassa. Vasemmanpuoleisessa kuvassa haarautunut SEL (a.), nuijamainen SEL (b.) ja standardimuotoinen SEL (c.). Oikeanpuoleisessa kuvassa oikealla venyneitä SEL:ja. PAS-värjäys. (Kuvat: Riikka Tanhua)

6. TULOKSET

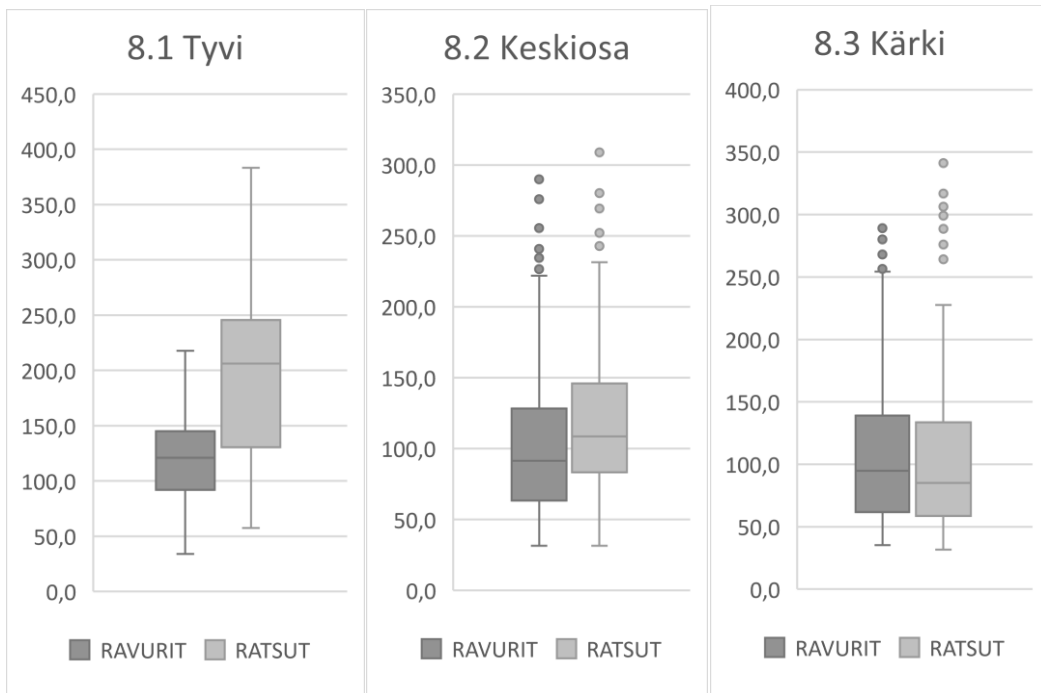
Potentiaalisista tutkimushevosista 8 täyttivät vaaditut kriteerit, joista 5 oli ravihevosia ja 3 ratsuhevosia. Ryhmien ikäjakauma, sukupuolijakauma, kuntoluokat, sekä ravureiden kilpailujen määrä ja aika edellisestä kilpailusta, sekä verinäytetulokset on esitetty taulukossa 2. Kaikki tutkimuksessa käytetyt hevoset olivat ruunia. Päälöydöksinä havaittiin primaaristen epidermaalisten lamellien tyvessä ja keskiosassa sijaitsevien sekundaaristen epidermaalisten lamellien pituudessa ero ryhmien välillä (kuva 8), jolloin ratsujen SEL:t olivat pidempiä kuin ravureiden. Primaaristen epidermaalisten lamellien kärjessä sijaitsevilla SEL:ssä ei havaittu eroa. SEL:n leveydessä (kuva 9) ei havaittu eroa ryhmien välillä missään kohdassa PEL:a. PEL:en pituudessa tai leveydessä ei havaittu silmämääräisesti tarkasteltuna eroja (kuva 10). Sekundaaristen epidermaalisten lamellien tyyppiarviointi on esitetty taulukossa 2. Ratsuilla SEL:n pituus on silmämääräisesti suurempi ja muoto erilainen verrattuna ravureihin. Tuloksiin ei liitetty tilastollista analyysiä otoskoon pienuuden vuoksi.

Taulukko 2. Hevosmateriaali ja verinäytetulokset hevosryhmittäin. Jos leukosyytit tai fibrinogeeni ylittivät viitearvot, hevonen hylättiin tutkimuksesta. Tulokset ilmoitettu vaihteluväleinä ja mediaaneina.

	Ravurit (n=5)	Ratsut (n=3)
Ikä (vuosi)	9 (4-15)	12 (9-18)
Kuntoluokka	2,5 (2-3)	3 (3-4)
Kilpailujen määrä (ravurit)	12 (1-108)	-
Aikaa edellisestä kilpailuista kk (ravurit)	27 (2-42)	-
Insuliini (IU/ml)	2,3 (<2-2,6)	2,495 (<2-2,99)
Leukosyytit (x10⁹/l) (viitearvo 3,0-12,0)	6,8 (5,2-7,1)	3,7 (n=1)
Fibrinogeeni (g/l) (viitearvo <5)	3,7 (3,6-4,7)	3,3 (n=1)
Glukoosi (mmol/l)	4,4 (3,6-6,4)	5,45 (5,3-5,6)

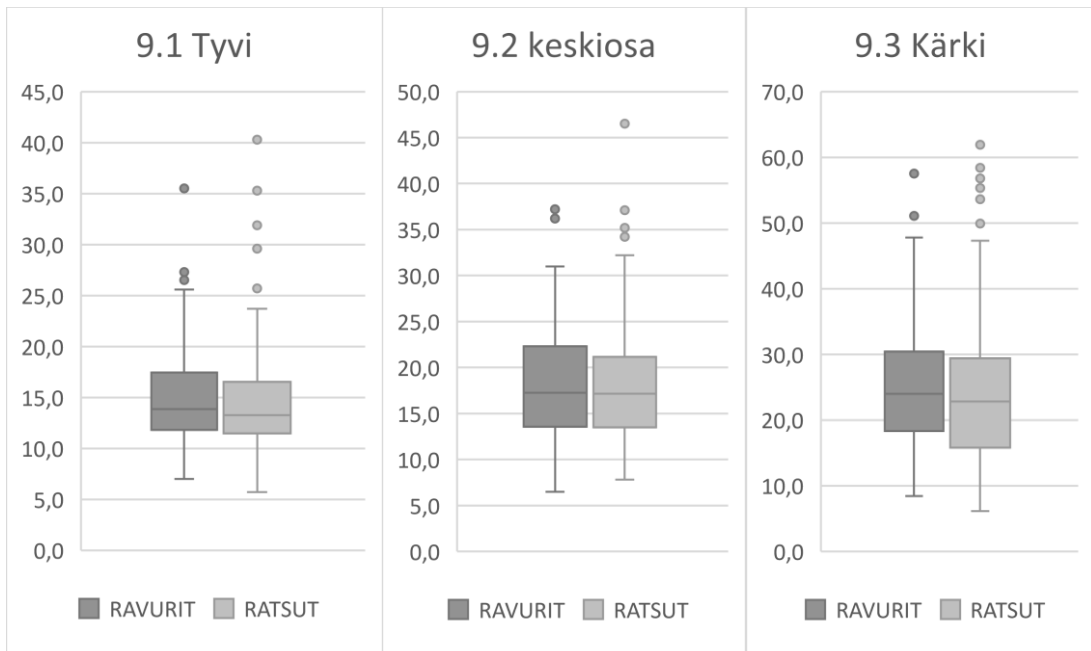
Kuva 8.

Sekundaaristen epidermaalisten lamellien pituus (μm) mitattuna PEL:n tyvestä (8.1), keskiosasta (8.2) ja kärjestä (8.3).



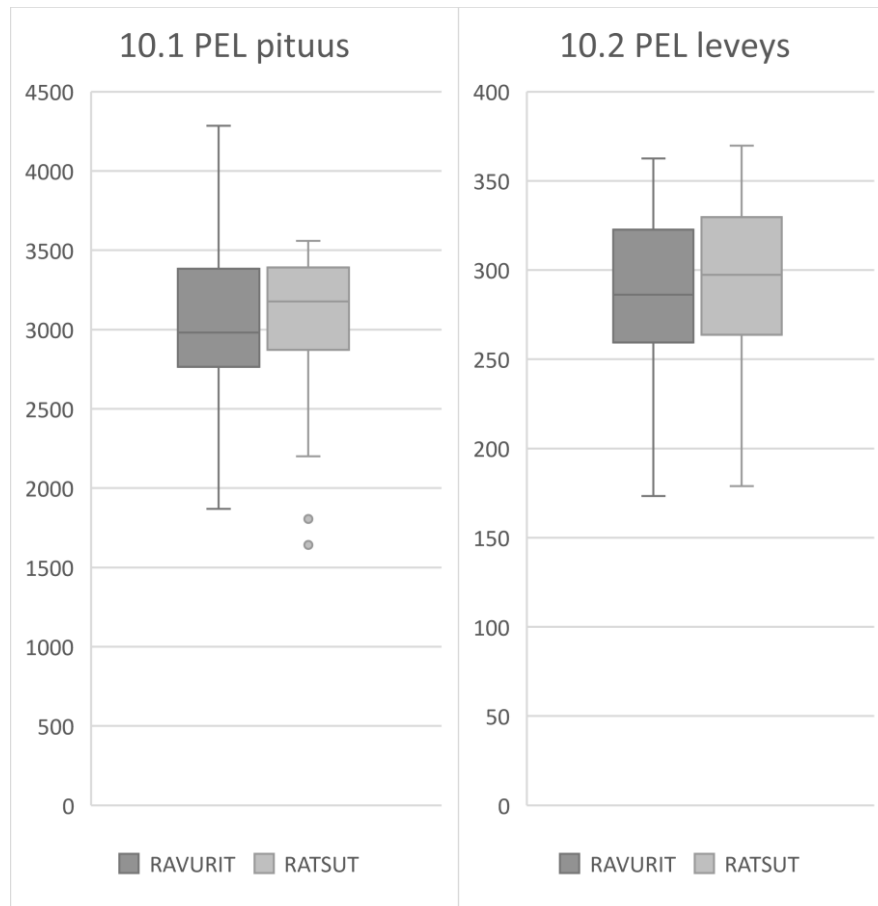
Kuva 9.

Sekundaaristen epidermaalisten lamellien leveys (μm) mitattuna PEL:n tyvestä (9.1), keskiosasta (9.2) ja kärjestä (9.3).



Kuva 10.

10.1 Primaaristen epidermaalisten lamellien pituus (μm) ravi- ja ratsuhevosilla 10.2
Primaaristen epidermaalisten lamellien leveydet (μm) ravi- ja ratsuhevosilla.



Taulukko 3. Sekundaaristen epidermaalisten lamellien tyyppien jakauma ravi- ja ratsuhevosilla (%).

	Tyyppi A	Tyyppi B	Tyyppi C	Tyyppi D	Tyyppi E	Muut
Ratsut						
						-
Tyvi	42,0	48,7	5,3	0,0	4,0	-
Keskiosa	51,3	14,0	28,0	0,7	6,0	-
Kärki	27,3	14,7	42,0	6,0	10,0	
Ravurit						
Tyvi	88,4	1,2	3,6	0,0	6,8	-
Keskiosa	62,0	7,2	18,4	0,0	12,4	-
Kärki	38,0	11,6	20,0	8,8	20,8	0,8

7. POHDINTA

Toteutetussa kuvailevassa tutkimuksessa verrattiin eri käyttötarkoituksessa olleiden hevosten kavion lamellikerroksen histologista rakennetta toisiinsa. Tutkimuksen hevoset olivat kliinisesti terveitä, eikä niillä ollut merkkejä kaviokuumeesta, metabolisesta tai tulehduksellisesta sairaudesta. Tutkimusten perusteella tiedetään, että ikä vaikuttaa lamellien rakenteeseen ainakin hevosen ollessa nuori. Varsan vanhetessa lamellit lisääntyvät ja pitenevät (Bidwell ym. 2006). Vanhemmilla hevosilla lamellien voisi olettaa olevan venyneempiä kuin nuoremmilla hevosilla, sillä vanhemmilla hevosilla on useampi vuosi liikuntaa takana. Aktiiviliikunta aloitetaan ravihevosten kanssa yleensä noin 2 vuotta aiemmin kuin ratsuilla. Tässä tutkimuksessa ratsujen mediaani-ikä oli 12 vuotta ja ravihevosten 9 vuotta. Iässä ei todettu tilastollisesti merkitsevää eroa ryhmien välillä, joten voidaan ajatella, että ikä ei luultavasti selitä ryhmien välistä eroa lamellikerroksen rakenteessa. Voidaan siis olettaa, että 9-vuotiaalla ravihevosella on aktiivisia liikuntavuosia takana lähes yhtä paljon kuin 12-vuotiaalla ratsulla. Liikunnasta aiheutuvan mekaanisen rasituksen tiedetään vaikuttavan kavioon kohdistuvaan paineeseen (Clayton 1990, Hernlund ym. 2010, Hobbs ym. 2016). Vaikka tutkimuksessa ei voitu varmistaa hevosten täyttä

liikuntahistoriaa, harhaa pyrittiin minimoimaan valikoimalla tutkimushevosiksi hyväkuntoisia ratsuja ja aktiiviuraa tehneitä ravureita, jotta yksilöiden väliset erot aktiivisessa liikunnassa olisivat mahdollisimman vähäiset.

Tutkimuksessa ratsuja ei eroteltu toisistaan käyttötarkoituksen mukaan, vaan kaikkien ratsujen oletettiin toimineen yleishevosina, eli liikutus on tapahtunut sekä tasaisella alustalla että esteitä hyppäämällä. Koska ravurit liikkuvat käytännössä ainoastaan tasaisella alustalla, olisi mahdollista tutkia joko ravureiden ja vain tasaisella alustalla liikkuvien ratsujen, tai esteitä hyppäävien ja tasaisella alustalla liikkuvien ratsujen lamellikerroksen rakenteen välisiä eroja. Näin saataisiin tarkempaa tietoa siitä, vaikuttaako nimenomaan erilaisella alustalla liikkuminen lamellikerrokseen, vai johtuvatko mahdolliset erot erilaisesta liikkumistavasta. Esteitä hyppäävillä ratsuilla painon vaikutus etukavioiden paineeseen on kuitenkin huomattavasti suurempi kuin kouluratsastukseen suuntautuneilla hevosilla johtuen hyppykaaren aiheuttamasta fysikaalisista voimavaikutuksista (Hernlund ym. 2010). Näin ollen runsaasti esteitä hyppäävien hevosten liikkumista ei voida täysin verratta ravureiden liikkumiseen, vaikka liikuntapohjan materiaalit ovatkin ratsuilla hyvin samanlaiset. Tutkimukseen osallistuneiden hevosten liikuntapohjan laatu arvioitiin käyttötarkoituksen mukaan.

Tutkimusaineiston perusteella ei selviä, millaisella kengityksellä tai kengitysvälillä hevosia oli hoidettu. Tiedetään, että kengityksellä on jonkin verran vaikutusta kavioon kohdistuvaan paineeseen, samoin kaviokulmauksilla (Clayton 1990, Amitrano ym. 2015, Leśniak ym. 2017, Faramarzi ym. 2018), joten kengitystaustan tietäminen on tutkimushevosten osalta tärkeää. Tutkimuksessa kengityksen vaikutusta kavioiden rakenteeseen ja sen liikevaikutuksia ei huomioitu, mutta virhelähteet pyrittiin minimoimaan arvioimalla hevosten liikkeitä ontumien varalta ennen lopetusta.

Kaviomekanismin kollageenisäikeiden on tutkittu kiinnittyvän hemidesmosomien avulla tiheämmin SEL:ien kärkiosiin ja PEL:ien keski- ja tyviosiin (Pollitt ym. 2016). Ratsuilla havaittu SEL:ien venyneempi muoto PEL:ien tyvi- ja keskiosassa voi aiheutua siis rasituksen seurauksena syntyneestä venymisestä. Tutkimuksessa oli kuitenkin oletus, että ravureiden kaviot ovat kovemmalla pohjalla ja suuremmilla nopeuksilla kovemmassa rasituksessa kuin ratsuilla (Drevemo ym. 1994, Wilson ym 2009, Wilson ym 2014, Faramarzi ym 2018). Näin ollen kovemman rasituksen seurauksena paineen kohdistumisen SEL:hin voitaisiin olettaa

aiheuttavan voimakkaampaa venytystä rakenteisiin myös ravihevosilla. Eron ratsu- ja ravihevosten välillä voidaan olettaa johtuvan erilaisesta painojakaumasta, sekä erilaisesta kavioon kohdistuvasta paineesta liikunnan aikana. Kavioon kohdistuvassa rasiituksen synnyttämää painetta arvioitaessa tulee huomioda, että ratsuilla on yleensä ratsastajasta johtuen kavioiden päällä suurempi paino liikunnan aikana. Ravureilla paino taas on vähäisempi, sillä kärryjen ja ohjastajan paino ei tule suoraan kavioiden päälle. Ratsuilla paineen on todettu vähenevän kaivoilta liikkeen aikana, jos ratsastaja on taitava (Clayton 1994, Summerley ym. 1998). Tässä tutkimuksessa osallistuneista ratsuista ei ollut tietoa niiden tasosta tai hevosta ratsastaneiden tasosta. Näin ollen mahdollisesti alemmalla tasolla ratsastavien ratsastajien paino olla kavion rasiitusta lisäävä, joka voisi selittää ratsujen kohdalla SEL:ien venymisen. Tutkittavien yksilöiden taustat on mahdollista selvittää tarkemmin esimerkiksi omistajalle suunnatun kyselylomakkeen perusteella.

Harhaa tutkimuksessa aiheutti sokkouttamaton tutkimusasetelma. Lamellien rakennetta arvioitaessa arvioijalla oli tiedossa, minkä yksilön kuvia oli tarkastelemassa. Koska myös yksilön ja sen käyttötarkoituksen yhteys on ollut arvioijan tiedossa, tästä on voinut aiheutua SEL:n muotoa arvioitaessa harhaa. Mittaukset on suoritettu käsivaralla, mutta tarkan ohjeistuksen mukaan, joten tässä tapauksessa harhan mahdollisuus on pieni. Lisäksi kaikki mittaukset on tehty saman henkilön toimesta. Mahdollisia jatkotutkimuksia ajatellen yksilöiden sokkoutus mittaajalta voi vähentää mittauksien ja rakenteiden arvioinnissa harhan mahdollisuutta, ja näin parantaa tutkimuksen laatua. Lisäksi mittausten suorittaminen useamman henkilön toimesta voi vähentää inhimillisistä virheistä johtuvaa harhaa. Laboratorioanalyseissä harhan mahdollisuus oli vähäinen, sillä analyysin tekivät henkilöt, joilla ei ollut mitään tietoa tutkimukseen osallistuneiden hevosten taustoista tai käyttötarkoituksesta. Verinäytteet on kuitenkin kuljetettu noin kolmen tunnin matka näytteenotosta, joten tällä voi olla jonkin verran vaikutusta verinäytteiden tuloksiin. Verinäytetuloksiin voi vaikuttaa myös hevosten lopetusvaiheessa kokema stressi, joka voi joissain määrin nostaa esimerkiksi glukoosiarvoja.

Tutkimuksessa ei lähdetty tarkemmin arvioimaan lamellikerroksen solutason eroja, sillä kyseessä oli pilottitutkimus. Tämän tutkimuksen perusteella olisi kuitenkin mielenkiintoista lähteä pohtimaan lamellien pituuksien, leveyksien ja tyyppien lisäksi epidermaalisolujen muutoksia lamelleissa. Koska nuoremmilla hevosilla lamellien solurakenne on pyöreämpi kuin vanhemmilla hevosilla (Bidwell ym. 2006), voitaisiin tätä hyödyntää muodostettaessa

arviointikriteereitä lamellien solutason arviointiin ja sitä kautta ottaa paremmin huomioon myös iän vaikutus lamellien rakenteeseen. Lisäksi solutason arvioinnilla ja erilaisilla histologisilla värjäystekniikoilla voitaisiin huomioida myös mahdolliset oksidatiivisen stressin aiheuttamat muutokset lamelleissa. Näin tutkimukseen osallistuvien hevosten terveydentilaa voidaan arvioida myös solutason muutoksien perusteella ja vähentää sitä kautta harhaa myös tältä osin.

Koska tutkimusmateriaali koostui pääosin teurastetuista hevosista, kaikkien lamelleihin vaikuttavien tekijöiden arvioiminen tarkasti oli vaativaa. Tutkijat eivät olleet suorassa kontaktissa hevosen omistajan kanssa, jolloin tarkkojen esitietojen kerääminen ei ollut mahdollista. Tarkempien esitietojen perusteella erilaiset hevosten liikuntapohjat, ikä, ruokinta ja muut kavion rakenteeseen vaikuttavat seikat voitaisiin huomioida tarkemmin ja pohtia niiden vaikutusta lamellien rakenteeseen käyttötarkoituksen yhteydessä. Lisäksi tutkimuksen harhan vaikutusta voidaan arvioida tämän perusteella paremmin. Jatkotutkimuksia ajatellen mainittujen lamellikerrokseen vaikuttavien tekijöiden huomioiminen ja tutkimusasetelman luominen tulee tehdä niin, että eri tekijöiden vaikutukset voidaan ottaa huomioon mahdollisimman tarkasti välttämällä samalla ominaisuuksien aiheuttamia ristivaikutuksia.

8. JOHTOPÄÄTÖKSET

Tulosten perusteella voidaan vetää hyvin vähän johtopäätöksiä, sillä tutkimuksen otoskoko oli pieni. Tutkimuksen tuloksena saatiin kuitenkin viitteitä siihen, että ratsujen ja ravureiden lamellirakenteissa voi olla jonkin verran eroja, vaikka tutkimuksessa eroja todettiin vähän. SEL:ien pituudessa PEL:ien tyvessä ja keskiosassa, sekä SEL-tyyppien jakaumassa havaittujen erojen todentamiseksi otoskokoa tulee jatkotutkimuksissa laajentaa luotettavan tilastollisen analyysin suorittamiseksi. Tulosten perusteella saatiin viitteitä siitä, että eri käyttötarkoituksessa olevien hevosten käyttö mahdollisesti vaikuttaa jollakin tasolla myös kavion histologiseen anatomiaan.

LÄHTEET

Amitrano FN, Gutierrez-Nibeyro SD, Schaeffer DJ. Effect of hoof boots and toe-extension shoes on the forelimb kinetics during walking. *American Journal of Veterinary Research* 2015, 77: 527-533.

(Anonymi.) Integumentum Commune. Teoksessa: *Nomina Anatomica Veterinaria*. 5. p. International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, Hannover 2012: 156-160.

Asplin KE, Patterson-Kane JC, Sillence MN, Pollitt CC, McGowan CM. Histopathology of insulin-induced laminitis in ponies. *Equine veterinary journal* 2010, 42(8): 700-706.

Bidwell LA, Bowker RM. Evaluation of changes in architecture of the stratum internum of the hoof wall from fetal, newborn, and yearling horses. *American Journal of Veterinary Research* 2006, 67: 1947-1955.

Chateau H, Holden L, Robin D, Falala S, Pourcelot P, Estoup P, Denoix J-M, Crevier-Denoix N. Biomechanical analysis of hoof landing and stride parameters in harness trotter horses running on different tracks of a sand beach (from wet to dry) and on an asphalt road. *Equine Veterinary Journal* 2010, 42: 488-495.

Chateau H, Robin D, Falala S, Pourcelot P, Valette J-, Ravary B, Denoix J-, Crevier-Denoix N. Effects of a synthetic all-weather waxed track versus a crushed sand track on 3D acceleration of the front hoof in three horses trotting at high speed. *Equine veterinary journal* 2009, 41: 247-251.

Clayton HM. The effect of an acute hoof wall angulation on the stride kinematics of trotting horses. *Equine veterinary journal* 1990, 22: 86-90.

Clayton HM. Comparison of the stride kinematics of the collected, working, medium and extended trot in horses. *Equine Veterinary Journal* 1994, 3: 230-234

Crevier-Denoix N, Robin D, Pourcelot P, Falala S, Holden L, Estoup P, Desquilbet L, Denoix JM, Chateau H. Ground reaction force and kinematic analysis of limb loading on two different beach sand tracks in harness trotters. *Equine Veterinary Journal* 2010, 42: 544-551.

De Laat MA, McGree JM, Sillence MN. Equine hyperinsulinemia: Investigation of the enteroinsular axis during insulin regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2016 (2015), 310: E61-E72.

De Laat MA, van Eps AW, McGowan CM, Sillence MN, Pollitt CC. Comparative histopathology 48 hours after experimental induction with insulin or alimentary oligofructose in standardbred horses. *Journal of Comparative Pathology* 2011, 145: 399-409.

DeJardin LM, Arnoczky SP, Cloud GL. A method for determination of equine hoof strain patterns using photoelasticity: an *in vitro* study. *Equine veterinary journal* 1999, 31 (3): 232-237.

Dellmann HD. *Textbook of Veterinary Histology*. 4 p. Lea & Febiger, Pennsylvania 1993.

Dellmann HD, Carithers JR. *Cytology and Microscopic Anatomy*. 1 p. Williams & Wilkins, Pennsylvania 1996.

Drevemo S, Hjertén G, Johnston C. Drop hammer tests of Scandinavian harness racetracks. *Equine Veterinary Journal* 1994, 17: 35-38.

Dyhre-Poulsen P, Smedegaard HH, Roed J, Korsgaard E. Equine hoof function investigated by pressure transducers inside the hoof and accelerometers mounted on the first phalanx. *Equine veterinary journal* 1994, 26: 362-366.

Famarzi B, An N., Fanglong D. Changes in Hoof Kinetics and Kinematics at Walk in Response to Hoof Trimming: Pressure Plate Assessment. *Journal of Veterinary Science* 2018, 19.4: 557-562.

Faramarzi B. Morphological spectrum of primary epidermal laminae in the forehoof of thoroughbred horses. *Equine veterinary journal* 2011, 43: 732-736.

Goulet C, Olive J, Rossier Y, Beuchamp G. Radiographic and anatomic characteristics of dorsal hoof wall layers in nonlaminitic horses. *Veterinary radiological ultrasound* 2015, 56: 589-594.

Granström J, Johansson O, Laiho J, Skarra P. Hevosen kengitys. 2. painos p. Opetushallitus, Helsinki 2011.

Hernlund E, Egenvall A, Roepstorff L. Kinematic characteristics of hoof landing in jumping horses at elite level. *Equine veterinary journal* 2010, 42: 462-467.

Hobbs SJ, Bertram JEA, Clayton HM. An exploration of the influence of diagonal dissociation and moderate changes in speed on locomotor parameters in trotting horses. *PeerJ* 2016, 4: 3.5.2017.

Karikoski NP, Horn I, McGowan TW, McGowan CM. The prevalence of endocrinopathic laminitis among horses presented for laminitis at a first-opinion/referral equine hospital. *Domestic Animal Endocrinology* 2011, 41: 111-117.

Karikoski NP, McGowan CM, Singer ER, Asplin KE, Tulamo R, Pattersson-Kane JC. Pathology of Natural Cases of Equine Endocrinopathic Laminitis Associated With Hyperinsulinemia. *Veterinary Pathology* 2015a, 52(5): 945-956.

Karikoski NP, Pattersson-Kane JC, Asplin KE, McGowan TW, McNutt M, Singer ER, McGowan CM. Morphological and cellular changes in secondary epidermal laminae of horses with insulin-induced laminitis. *American Journal of Veterinary Research* 2014, 75: 161-168.

Karikoski NP, Pattersson-Kane JC, Singer ER, McFarlane D, McGowan CM. Lamellar pathology in horses with pituitary *pars intermedia* dysfunction. *Equine veterinary journal* 2015b, 0: 1-7.

Kawasako K, Higashi T, Nakaji Y, Komine M, Hirayama K, Matsuda K, Okamoto M, Hashimoto H, Tagami M, Tsunoda N, Taniyama H. Histologic evaluation of the diversity of epidermal laminae in hooves of horses without clinical signs of laminitis. *American Journal of Veterinary Research* 2008, 70: 186-193.

Kochová P, Witter K, Cimrman R, Mezerová J, Tonar Z. A preliminary study into the correlation of stiffness of the laminar junction of the equine hoof with the length density of its secondary lamellae. *Equine Veterinary Journal* 2013, 45: 170-175.

Lancaster LS, Bowker RM, Mauer WA. Equine Hoof Wall Tubule Density and Morphology. *Journal of Veterinary Medical Science* 2013, 75(6): 773-778.

Laskoski LM, Dittrich RL, Valadão CAA, Brum JS, Brandão Y, Brito HFV, de Sousa RS. Oxidative stress in hoof laminar tissue of horses with lethal gastrointestinal disease. *Veterinary immunology and immunopathology* 2016, 171: 66-72.

Leise BS, Faleiros RR, Watts M, Johnson PJ, Black SJ, Belknap JK. Hindlimb laminar inflammatory response is similar to that present in forelimbs after carbohydrate overload in horses. *Equine Veterinary Journal* 2012, 44: 633-639.

Leśniak K, Williams J, Kuznik K, Douglas P. Does a 4–6 Week Shoeing Interval Promote Optimal Foot Balance in the Working Equine? *Animals : an Open Access Journal from MDPI* 2017, 7(4): 29.

Medina-Torres CE, Pollit CC, Underwood C, Castro-Olivera EM, Collins SN, Allavena RE, Richardson DW, van Eps AW. Equine lamellar energy metabolism studied using tissue microdialysis. *The Veterinary Journal* 2014, 201: 275-282.

Morgan RA, Keen JA, Walker BR, Hadoke PWF. Vascular Dysfunction in Horses with Endocrinopathic Laminitis. *PloS ONE* 2016, 11(9): 18.10.2016.

Morgan R., Keen J., McGowan C., Equine metabolic syndrome. *Veterinary Record* 2015, 177(7):173-179

Panagiototoulou, O, Rankin, JF, Gatesy, SM, Hutchinson, JR. A preliminary case study of the effect of shoe-wearing on the biomechanics of a horse's foot. *PeerJ* 2016, 4: 18.2.2019

Parsons CS, Orsini JA, Krafty R, Capewell L, Boston R. Risk factors for development of acute laminitis in horses during hospitalization: 73 cases (1997–2004). *Journal of American Veterinary Medical Association* 2007, 6: 885-889.

Patterson-Kane JC, Karikoski NP, McGowan CM. Paradigm shifts in understanding equine laminitis. *The Veterinary Journal* 2018, 231: 33-40.

Pollitt CC, Collins SN. The suspensory apparatus of the distal phalanx in normal horses. *Equine veterinary journal* 2016, 48: 496-501.

Pollitt CC. The basement membrane at the equine hoof dermal epidermal junction. *Equine veterinary journal* 1994, 26: 399-407.

Pollitt CC. Basement membrane pathology: a feature of acute equine laminitis. *Equine veterinary journal* 1996, 28: 38-46.

Pollitt CC. The anatomy and physiology of the hoof wall. *Equine Veterinary Education* 1998, 10: 318-325.

Pollitt CC. Anatomy and Physiology of the Inner Hoof Wall. *Clinical Techniques in Equine Practice* 2004, 3: 3-21.

Pollitt CC. *The Illustrated Horse's Foot*. 1. painos p. Elsevier, St. Louis, Missouri 2016.

Reed SM, Bayly WM, Sellon DC. *Equine internal medicine*. 3rd edition p. Saunders, Elsevier, United States of America 2010.

Ross MW, Dyson SJ. *Lameness in the Horse*. 2nd edition p. Saunders, United States 2011.

Summerley HL, Thomason JJ, Bignell WW. Effect of rider and riding style on deformation of the front hoof wall in Warmblood horses. *Equine veterinary journal* 1998, 26: 81-85.

Tóth F, Frank N, Chameroy KA, Bostont RC. Effects of endotoxaemia and carbohydrate overload on glucose and insulin dynamics and the development of laminitis in horses. *Equine Veterinary Journal* 2009, 41(9): 852-858.

Virgin JE, Goodrich LR, Baxter GM, Rao S. Incidence of support limb laminitis in horses treated with half limb, full limb or transfixation pin casts: a retrospective study of 113 horses (2000-2009). *Equine veterinary journal* 2011, 40: 7-11

Wilson A, Agass R, Vaux S, Sherlock E, Day P, Pfau T, Weller R. Foot placement of the equine forelimb: Relationship between foot conformation, foot placement and movement asymmetry. *Equine veterinary journal* 2014, 48: 90-96.

Wilson GH, McDonald K, O'Connell MJ. Skeletal forelimb measurement and hoof spread in relation to asymmetry in the bilateral forelimb of horses. *Equine veterinary journal* 2009, 41: 238-241.

Wylie CE, Collins SN, Verheyen KLP, Newton JR. Frequency of equine laminitis: A systematic review with quality appraisal of published evidence. *The Veterinary Journal* 2011, 189: 248-256.